



Vydání: 10.	Počet stran: 16
Datum vydání: 25. 05. 2018	Platnost od: 01. 06. 2018

LABORATORNÍ MANUÁL
pro uživatele služeb Laboratoří Ústavu lékařské genetiky
Fakultní nemocnice Olomouc

Zpracoval: doc. RNDr. Radek Vrtěl, Ph.D. Vedoucí laboratoře DNA RNDr. Pavlína Čapková, Ph.D. Vedoucí prenatální cytogenetické laboratoře RNDr. Kateřina Adamová, Ph.D. Vedoucí postnatální cytogenetické laboratoře Bc. Renata Streitová Vrchní sestra Jana Křepská Úseková laborantka	Přezkoumal: Ing. Jana Duchoslavová, Ph.D. Manažer kvality	<input checked="" type="checkbox"/> Originál <input type="checkbox"/> Číslo kopie:
Schválil: doc. RNDr. Radek Vrtěl, Ph.D. Zástupce přednosty		
Dokument je majetkem FNOL.		



Obsah

1.	ÚVOD	3
2.	DEFINICE A ZKRATKY	3
3.	ZÁKLADNÍ INFORMACE O LABORATOŘÍCH ÚSTAVU LÉKAŘSKÉ GENETIKY	3
3.1.	STATUT A DŮLEŽITÉ ÚDAJE	3
3.2.	STRUKTURA GEN	3
3.3.	IDENTIFIKACE GEN, LGEN, PŘEDMĚT ČINNOSTÍ	4
3.4.	ÚROVEŇ A STAV AKREDITACE LGEN	6
3.5.	SPEKTRUM A POPIS SLUŽEB	6
4.	POŽADAVEK NA VYŠETŘENÍ	6
4.1.	ÚSTNÍ POŽADAVEK NA VYŠETŘENÍ. OPAKOVANÉ A DODATEČNÉ VYŠETŘENÍ	6
4.2.	POŽADAVEK LÉKAŘE NA LABORATORNÍ VYŠETŘENÍ PACIENTA - SAMOPLÁTCE	7
4.3.	POŽADAVEK SAMOTNÉHO SAMOPLÁTCE NA LABORATORNÍ VYŠETŘENÍ	7
5.	ODBĚR BIOLOGICKÉHO MATERIÁLU	8
5.1.	PŘÍPRAVA PACIENTA PŘED ODBĚREM BIOLOGICKÉHO MATERIÁLU	8
5.2.	POŽADAVKY NA ODBĚR A TRANSPORT BIOLOGICKÉHO MATERIÁLU	8
5.3.	IDENTIFIKACE PACIENTA NA ŽADANCE A OZNAČENÍ VZORKU BIOLOGICKÉHO MATERIÁLU	9
5.4.	HLAVNÍ CHYBY PŘI ODBĚRU BIOLOGICKÉHO MATERIÁLU	10
6.	PŘÍJEM ŽADANEK A BIOLOGICKÉHO MATERIÁLU	12
6.1.	PŘÍJEM BIOLOGICKÉHO MATERIÁLU	12
6.2.	POSTUPY PŘI NESPRÁVNÉ IDENTIFIKACI VZORKU NEBO ŽADANKY	12
7.	UCHOVÁVÁNÍ BIOLOGICKÉHO MATERIÁLU	13
8.	VÝSLEDKY	14
8.1.	SDĚLOVÁNÍ VÝSLEDKŮ ŽADATELŮM O VYŠETŘENÍ	14
8.2.	HLÁŠENÍ VÝSLEDKŮ V KRITICKÝCH INTERVALECH	14
8.3.	VYDÁVÁNÍ VÝSLEDKŮ PŘÍMO PACIENTŮM A DALŠÍM OSOBÁM	14
8.4.	ZMĚNY VÝSLEDKŮ A NÁLEZŮ	14
9.	KONZULTAČNÍ ČINNOST LABORATOŘÍ GEN	15
9.1.	ZPŮSOB ŘEŠENÍ STÍŽNOSTÍ	15
10.	PŘÍLOHY	16
11.	REVIZE	16

1. ÚVOD

Jedním ze stěžejních dokumentů klinické laboratoře je podle normy ČSN EN ISO 15189:2013 Příručka pro odběr primárních vzorků - Laboratorní manuál. Jejím úkolem je seznámit uživatele služeb laboratoře, žadatele o laboratorní vyšetření, se spektrem nabízených služeb, s pravidly a předpoklady jejich racionálního požadování, s podmínkami odběru, skladování a transportu biologických materiálů a s možnostmi využití a správné interpretace výsledků laboratorních vyšetření. Aktuální nabídka vyšetření laboratoří GEN je uvedena v **Katalogu laboratorních vyšetření**.

Laboratorní manuál je určen pro extramurální žadatele o vyšetření BM a pro žadatele o vyšetření ambulantní části Ústavu lékařské genetiky.

Laboratorní manuál i Katalog laboratorních vyšetření jsou k dispozici výhradně v el. podobě na intranetových a internetových stránkách Fakultní nemocnice Olomouc. Veškeré informace uvedené v Laboratorním manuálu budou průběžně aktualizovány podle potřeb klinické a laboratorní praxe.

2. DEFINICE A ZKRATKY

BM	Biologický materiál
CVS	Odběr choriových klků
ČIA	Český institut pro akreditaci, obecně prospěšná společnost
DNA	Deoxyribonucleic acid
FISH	Fluorescent in situ hybridization
FNOL	Fakultní nemocnice Olomouc, FN Olomouc
GEN	Ústav lékařské genetiky
IČL	Identifikační číslo lékaře
IČP	Identifikační číslo pracoviště
LF	Lékařská fakulta
LGEN	Laboratoře Ústavu lékařské genetiky
LM	Laboratorní manuál
OKB	Oddělení klinické biochemie
QF PCR	Quantitative fluorescent polymerase chain reaction
SZŠ	Střední zdravotnická škola
VŠ	Jiný odborný pracovník nelékař s odbornou způsobilostí nebo s odbornou a specializovanou způsobilostí

3. ZÁKLADNÍ INFORMACE O LABORATOŘÍCH ÚSTAVU LÉKAŘSKÉ GENETIKY

3.1. Statut a důležité údaje

Laboratoře Ústavu lékařské genetiky jsou součástí Ústavu lékařské genetiky, který je samostatnou organizační jednotkou Fakultní nemocnice Olomouc. Zřizovatelem je FNOL a jeho zřizovací listina je uložena na ředitelství FNOL.

Ústav lékařské genetiky FNOL pracuje od počátku své činnosti, tzn. od roku 1977, jako nadregionální centrum s celostátní působností. Podle původního spádového rozdělení rutinně vyšetřuje pacienty z Olomouckého kraje a částečně z Moravsko-slezského a Zlínského kraje.

Ústav lékařské genetiky se zabývá typickou problematikou lékařské genetiky.

3.2. Struktura GEN

GEN se dělí na 4 úseky

- Ambulance
- Prenatální cytogenetická laboratoř
- Postnatální cytogenetická laboratoř
- Laboratoř DNA

Součástí LGEN není odběrové středisko.

3.3. Identifikace GEN, LGEN, předmět činností

Název	Ústav lékařské genetiky FNOL
Identifikační údaje	viz okruh působnosti GEN
Adresa	Ústav lékařské genetiky FNOL, I. P. Pavlova 185/6, 779 00, Olomouc
Umístění	V 1. – 3. patře budovy „T“
Provozní doba	7.00 – 15.30 hod
Přednosta	Prof. MUDr. Martin Procházka, Ph.D.
Okruh působnosti ambulantní části GEN	Genetické poradenství celého spektra geneticky podmíněných vrozených vývojových vad a dědičných onemocnění.
Okruh působnosti laboratorní části GEN	Prenatální diagnostika VVV a vrozených chromozomálních aberací u plodu - karyotypizace, FISH, DNA diagnostika. Postnatální diagnostika - karyotypizace, mutagenese, FISH, DNA diagnostika.
Zástupce přednosta Vedoucí laboratoři	doc. RNDr. Radek Vrtěl, Ph.D.
telefon	588442866
e-mail	radek.vrtel@fnol.cz
Vrchní sestra	Renata Streitová
telefon	588443858
e-mail	renata.streitova@fnol.cz
Sekretariát:	Vladimíra Drgová
telefon / fax	588444463
e-mail	genetika@fnol.cz

Název laboratoře	Laboratoř DNA
Identifikační údaje	Laboratoř zaměřená na analýzu DNA
Adresa	Ústav lékařské genetiky FNOL, I. P. Pavlova 185/6, 779 00, Olomouc
Umístění	Ve 2. patře budovy „T“
Okruh působnosti laboratoře	Testování polymorfismů. Vyšetřování příčin monogenních i polygenních onemocnění analýzou DNA izolované z lymfocytů periferní krve, buněk z plodové vody a choriových klků, eventuálně z dalšího materiálu obsahujícího jaderné buňky. Testování uniparentální disomie, rychlé vyloučení aneuploidií u plodu. Neinvazivní vyšetření genotypu plodu. Pohlaví plodu. Identifikace osob. Vyšetřovací metody: PCR, real-time PCR, horizontální elektroforéza, fragmentační analýza a sekvenování v kapilární elektroforéze, masívně paralelní sekvenace, analýza dat.



Vedoucí laboratoře	doc. RNDr. Radek Vrtěl, Ph.D.
telefon / e-mail	radek.vrtel@fnol.cz
Lékařský garant odbornosti	Prof. MUDr. Martin Procházka, Ph.D.
Analytický garant odbornosti	doc. RNDr. Radek Vrtěl, Ph.D.
Zpracování primárního vzorku a jeho zasílání ke specializovanému vyšetření na základě požadavku žadatele. Následné vydání výsledků vyšetření zákazníkům (lékařům) v písemné i v elektronické podobě.	

Název laboratoře	Prenatální cytogenetická laboratoř
Identifikační údaje	Laboratoř zaměřená na prenatální cytogenetické vyšetření
Adresa	Ústav lékařské genetiky FNOL, I. P. Pavlova 185/6, 779 00, Olomouc
Umístění	Ve 2. patře budovy „T“
Okruh působnosti laboratoře	Wyšetření karyotypu plodu. Chromozomální analýza plodu z plodové vody, pupečnickové krve a choriových klků, eventuelně z tkání plodu a placent po abortu (spontánním/umělem). Wyšetření technikou fluorescenční in situ hybridizace (FISH) u plodu. Součástí je i specializované wyšetření technikou fluorescenční in situ hybridizace (FISH) nebo Multiple Ligation- dependent Probe Amplification (MLPA) v indikovaných případech (statimová wyšetření na vyloučení aneuploidii nebo rychlou detekci pohlaví u plodu, dořešení strukturálních přestaveb, detekce mikrolecí u plodu atp.)
Vedoucí laboratoře	RNDr. Pavlína Čapková, Ph.D.
telefon / e-mail	pavlina.capkova@fnol.cz
Lékařský garant odbornosti	Prof. MUDr. Martin Procházka, Ph.D.
Analytický garant odbornosti	RNDr. Pavlína Čapková, Ph.D.
Zpracování primárního vzorku a jeho zasílání ke specializovanému vyšetření na základě požadavku žadatele. Následné vydání výsledků wyšetření zákazníkům (lékařům) v písemné i v elektronické podobě.	

Název laboratoře	Postnatální cytogenetická laboratoř
Identifikační údaje	Laboratoř zaměřená na postnatální cytogenetické wyšetření
Adresa	Ústav lékařské genetiky FNOL, I. P. Pavlova 185/6, 779 00, Olomouc
Umístění	Ve 2. patře budovy „T“
Okruh působnosti laboratoře	Wyšetření karyotypu pacientů z periferní krve. U rizikových pacientů wyšetření mutagenyzy. Wyšetření, eventuelně specifikace některých chromozomálních aberací (např. marker-chromozomů, chromozomálních mozaik,



	mikrodelecí aj.) technikou fluorescenční in situ hybridizace (FISH) nebo Multiple Ligation- dependent Probe Amplification (MLPA).
Vedoucí laboratoře	RNDr. Kateřina Adamová, Ph.D.
telefon / e-mail	kadamova@post.cz
Lékařský garant odbornosti	Prof. MUDr. Martin Procházka, Ph.D.
Analytický garant odbornosti	RNDr. Kateřina Adamová, Ph.D.
Zpracování primárního vzorku a jeho zaslání ke specializovanému vyšetření na základě požadavku žadatele. Následné vydání výsledků vyšetření zákazníkům (lékařům) v písemné i v elektronické podobě.	

3.4. Úroveň a stav akreditace LGEN

LGEN jsou akreditované ČIA pod č. 8247 dle normy ČSN EN ISO 15189.

3.5. Spektrum a popis služeb

Nabídka vyšetření prováděných v jednotlivých laboratořích GEN je pro žadatele dostupná na žádankách o vyšetření BM nebo uvedena a přístupná v **Katalogu laboratorních vyšetření FNOL** v elektronické podobě.

Interní žadatelé nalezou informace na intranetových stránkách FN Olomouc <http://intranet.fnol.loc> v záložce **Pracoviště » Katalog laboratorních vyšetření**.

Externí žadatelé nalezou informace na internetových stránkách FN Olomouc <http://www.fnol.cz> v záložce **Odborníci » Laboratorní vyšetření » Katalog laboratorních vyšetření**.

3.5.1. Časové dostupnosti výsledku vyšetření

Časové dostupnosti vyšetření jsou uvedeny v Katalogu laboratorních vyšetření FNOL.

U každého jednotlivého vyšetření uvedeného v Katalogu laboratorních vyšetření FNOL je uvedeno, v jakém režimu je vyšetření prováděno (rutina, statim, vitální indikace). LGEN vyšetřují biologické materiály v režimu „rutina“.

V rámci režimu „rutina“ je možno požadovat u vybraných vyšetření uvedených v „Katalogu laboratorních vyšetření“ tzv. přednostní vyšetření. Přednostní vyšetření (označené v žádance jako „statim“) indikuje klinický genetik při riziku časového prodlení dodaného výsledku vyšetření ve specifických situacích, jako jsou:

- riziko nedodání výsledků prenatalního vyšetření do 24. týdne gravidity,
- těhotná pacientka s výskytem vývojové vady nebo mentálního postižení v jejím rodě indikovaná k postnatálnímu cytogenetickému vyšetření nebo DNA diagnóze (do 24. týdne gravidity),
- úmrtí nebo riziko úmrtí novorozence s nejasnou genetickou diagnózou indikovaného k cytogenetickému vyšetření nebo DNA diagnostice,
- vyšetření genů BRCA v návaznosti na terapii pacientky.

4. POŽADAVEK NA VYŠETŘENÍ

Vyšetření biologického materiálu lze požadovat formou písemné nebo elektronické žádanky. Obě formy obsahují stejné typy povinných údajů.

4.1. Ústní požadavek na vyšetření. Opakované a dodatečné vyšetření.

Základním způsobem požadování vyšetření je žádanka. Ústní nebo telefonické požadování vyšetření (např. doordinování vyšetření k již zaslánému vzorku) je možné. V případě, že z komunikace s žadatelem vznikne požadavek na doplnění požadovaného vyšetření (a pokud je k dispozici biologický materiál pro dodatečné vyšetření) je situace řešena těmito způsoby:

- Po uzavření nálezu – ordinující lékař je požádán o vytvoření nové žádanky s jednoznačnou identifikací vzorku, jehož vyšetření požaduje – (formulace „Materiál již v laboratoři“). Totéž platí i při požadavku na konkrétní vzorek, ze kterého má být vyšetření provedeno, jestliže od stejného pacienta pochází více vzorků – **vždy zodpovídá lékař-žadatel**. Pracovník na příjmu

BM provede přezkoumání a pracovník laboratoře DNA zapíše požadavek do deníku „Dožádáno“ s uvedením data záznamu.

- V případě, kdy požadavek na vyšetření dožadává jiný lékař, než byl původní žadající (např. izolaci DNA), bude jako zadavatel uveden aktuálně dožadávající lékař a jemu bude zaslán výsledek. Kopie tohoto výsledku bude dána na vědomí i původně žadajícímu lékaři (jeho indikace bude vhodně zmíněna).
- V případě neumožnění uzavření nálezu může VŠ pracovník rozhodnout o změně postupu vyšetření, popř. rozšíření spektra vyšetření. Lékař musí být o rozhodnutí informován a VŠ pracovník tuto změnu zaznamená do sešitu „DNA evidence“ popř. sešitu „Dožádáno“ (DNA lab.), knihy „Evidence pacientů“ (Prenatální cytogenetická lab.), „Evidence pacientů a výsledků postnatální chromozomální analýzy“ (Postnatální cytogenetická lab.). Požadavky jsou dopsány na žádanku s uvedením „dožádáno“ a identifikací pracovníka laboratoře a data záznamu.

Dodatečná vyšetření lze někdy provést s časovým omezením, které je dané stabilitou biologického materiálu. Po uplynutí časového intervalu stability BM laboratoř tato vyšetření neprovede a je nutný odběr nového vzorku. Vedoucí příslušného úseku, na němž je BM vyšetřován, zhodnotí, zda je možno dodatečné vyšetření provést.

Povinností pracovníků provádějících jednotlivá laboratorní vyšetření je průběžná kontrola plnění požadavků (zda každý požadavek má výsledek). V případě chybějícího výsledku pracovník neprodleně zajistí nápravu.

4.2. Požadavek lékaře na laboratorní vyšetření pacienta - samoplátce

Ordinující lékař vyplní žádanku (v papírové nebo elektronické podobě) s vyznačením požadovaných vyšetření a zřetelným upozorněním, že se jedná o samoplátce. Na žádance je důležité uvést, zda může být výsledek vyšetření dán do ruky pacientovi.

Požadující lékař po domluvě s laboratoří GEN pacientovi odebere vzorek příslušného BM a pošle jeho BM opatřený žádankou do laboratoří GEN.

Na příjmu GEN se žádanka zaregistruje a materiál se převezme ke zpracování.

Vyplní se formulář Fm-E002-VYUC-001 Vyúčtování zdravotních výkonů a služeb poskytovaných za přímou úhradu, event. podle potřeby Fm-E002-ARCH-001 Sběrný arch - vyúčtování zdravotních výkonů.

Pokud se jedná o pacienta externího lékaře, zašle se vyplněný formulář a kopie žádanky na ředitelství FNOL – Odbor ekonomiky a financí, které zajistí zaslání faktury ordinujícímu lékaři. Ten si vyřídí proplacení u pacienta.

Pokud se jedná o pacienta z FNOL – samoplátce, postup je obdobný, zašle se vyplněný formulář a kopie žádanky.

V obou případech se žádanka zadává do počítače a v poznámce o fakturaci („F“) se uvede 400 (plátce EU) nebo 401 (plátce mimo EU).

Autorizovaný výsledek vyšetření se odesílá požadujícímu lékaři tištěnou formou. Jestliže je výsledek určen do rukou pacienta, dostaví se samoplátce v určený den a je mu předán vytištěný, podepsaný a orazítkovaný výsledkový formulář. Lze domluvit i zaslání výsledků poštou, příp. elektronicky.

4.3. Požadavek samotného samoplátce na laboratorní vyšetření

Každý dospělý a svéprávný žadatel může požádat o odběr a jakékoliv vyšetření (z Katalogu laboratorních vyšetření GEN) svého vlastního biologického materiálu. Nepřipouští se vyšetřování přineseného biologického materiálu.

Vyplní se papírová žádanka, jednotlivé požadavky se vkládají do NIS. V ambulanci GEN se provede odběr biologického materiálu, který se převezme k dalšímu zpracování. Vyplní se formulář Fm-E002-VYUC-001 Vyúčtování zdravotních výkonů a služeb poskytovaných za přímou úhradu, event. podle potřeby Fm-E002-ARCH-001 Sběrný arch - vyúčtování zdravotních výkonů. Pro účely vyúčtování se vypočítá cena výkonů podle platných ceníků a metodického pokynu FNOL.

Formulář podepíše žadatel-samoplátce a lékař GEN. Žadatel je potom poučen, kdy bude výsledek vyšetření hotov a je odeslán zaplatit cenu výkonu(-ů) do pokladny ředitelství FNOL.

Výsledek vyšetření se předává žadateli-samoplátci po předložení dokladu o úhradě vyšetření ve formě vytištěného, podepsaného a orazítkovaného výsledkového listu. Lze domluvit i zaslání výsledků poštou.

5. ODBĚR BIOLOGICKÉHO MATERIÁLU

5.1. Příprava pacienta před odběrem biologického materiálu

Příprava pacienta před odběrem závisí na typu odběru, viz Příloha č. 1 Pokyny pro pacienty a pro oddělení.

5.2. Požadavky na odběr a transport biologického materiálu

5.2.1. Požadavky na odběr a transport biologického materiálu určeného ke kultivaci

- a) **periferní krev** (kultivace lymfocytů): odběr musí být proveden do sterilní nádoby s obsahem heparinu. Upřednostňujeme komerčně dostupné zkumavky určené k tomuto odběru – zkumavka VACUETTE (**zelená**) označené identifikačním štítkem. Požadované množství krve je 2-5 ml. Vyšetření je nutno předem konzultovat na tel. č. 585 854 466. Biologický materiál neprodleně transportovat do laboratoře. V případě, že tak není možno učinit ihned, uložit do chladničky. S prodlužujícím se odkladem transportu a založení kultury klesá procento úspěšnosti kultivace. Indikující lékař bere na vědomí, že je povinen zajistit Informovaný souhlas pacienta s tímto genetickým vyšetřením.
- b) **plodová voda**: odběr musí být proveden do sterilní nádoby. Upřednostňujeme komerčně dostupné zkumavky – zkumavka VACUETTE (**žlutá**) popř. injekční stříkačky či jiné sterilní nádoby označené identifikačním štítkem. Požadované množství plodové vody je cca 20 ml. Biologický materiál neprodleně transportovat do laboratoře. V případě, že tak není možno učinit ihned, uložit do chladničky. S prodlužujícím se odkladem transportu a založení kultury klesá procento úspěšnosti kultivace. Indikující lékař bere na vědomí, že je povinen zajistit informovaný souhlas pacienta s tímto genetickým vyšetřením. Doporučujeme dodat také materiál, ze kterého lze izolovat DNA matky – krev ve zkumavce s EDTA nebo stěr z bukální sliznice.
- c) **choriové klky**: odběr musí být proveden do sterilní nádoby (např. nádobka na sputum apod.) označené identifikačním štítkem, do sterilního fyziologického roztoku. Požadované množství minimálně 5 mg. Biologický materiál neprodleně transportovat do laboratoře. V případě, že tak není možno učinit ihned, uložit do chladničky. S prodlužujícím se odkladem transportu a založení kultury klesá procento úspěšnosti kultivace. Indikující lékař bere na vědomí, že je povinen zajistit informovaný souhlas pacienta s tímto genetickým vyšetřením. Doporučujeme dodat také materiál, ze kterého lze izolovat DNA matky – krev ve zkumavce s EDTA nebo stěr z bukální sliznice.
- d) **tkáň plodu** (kůže, placenta) po umělém ukončení gravidity nebo spontánním abortu: odběr musí být proveden sterilně do sterilní nádoby (např. sterilní nádoba na sputum nebo sterilní zkumavka) se sterilním fyziologickým roztokem označené identifikačním štítkem. U kůže je nutno zajistit odběr i s podkožím. U biotického materiálu, kde není možno odlišit maternální tkáň od vlastní tkáně plodu (zejména v placentě) doporučujeme dodat také materiál, ze kterého lze izolovat DNA matky – krev ve zkumavce s EDTA nebo stěr z bukální sliznice. Biologický materiál neprodleně transportovat do laboratoře. V případě, že tak není možno učinit ihned, uložit do chladničky. S prodlužujícím se odkladem transportu a založení kultury klesá procento úspěšnosti kultivace. Odebírající bere na vědomí, že je povinen zajistit informovaný souhlas pacienta s tímto vyšetřením, dále informovaný souhlas s odběrem a manipulací DNA pacientky.
- e) **pupečnická krev**: může se použít od 12. týdne gestace až do konce gravidity, většinou se používá od 16. týdne; odběr musí být proveden sterilně, používá se spinální jehla o velikosti 22 gauge, odebírá se asi 1-3 ml krve v závislosti na indikaci k výkonu a na gestaci plodu do stříkačky/zkumavky s heparinem. Biologický materiál neprodleně transportovat do laboratoře. V případě, že tak není možno učinit ihned, uložit do chladničky. Odebírající bere na vědomí, že je povinen zajistit informovaný souhlas pacienta s tímto vyšetřením.

- f) **stěr z bukální sliznice:** odběr musí být proveden sterilně a to sterilním kartáčkem nebo vatovým štětečkem (MasterAmp Buccal Brushes, Cytobrush, apod.), kdy je pacientovi vytřena sliznice ústní dutiny. Kartáček se vloží do sterilní zkumavky. Biologický materiál neprodleně transportovat do laboratoře. V případě, že tak není možno učinit ihned, uložit do chladničky. Odebírající bere na vědomí, že je povinen zajistit informovaný souhlas pacienta s tímto vyšetřením.

Primární vzorek v dobře uzavřených nádobách musí být na GEN dodaný včas, nejlépe ještě téhož dne. Pokud nelze provést, nutno vzorek uložit do chladu (4-8 °C). Teplota při transportu nesmí překročit teplotu uvedenou u jednotlivých vyšetření (viz pokyny v „Katalogu laboratorních vyšetření“). Za dodržení podmínek před a při transportu zodpovídá žadatel. Při transportu vzorků do laboratoře je doporučováno použití „termotašek“ nebo „termosek“.

5.2.2. Požadavky na odběr a transport biologického materiálu určeného k DNA vyšetření

- Primární vzorky periferní krve se odebírají v množství 5 – 10 ml do protisrážlivého roztoku EDTA (0,5 ml 0,5 mM EDTA na 10 ml periferní krve), případně do ACD (ne do heparinu!).
- Primární vzorky bukální sliznice se získají stěrem buněk bukální sliznice provedeným krouživým pohybem na vnitřní stěně dutiny ústní pomocí odběrového kartáčku, který se následně vloží do označené sterilní zkumavky. Požadujeme, aby hodinu předem osoba nejedla a nepila mléko (ani mateřské).
- V případě požadavku na vyšetření uniparentální disomie (PW/AS, Silver-Russel sy) požadujeme i odběr vzorků rodičů.
- Krevní skvrna se pořídí nakapáním primárního vzorku na označenou FTA kartu (FTA Gene Card).
- Primární vzorek plodové vody (1 – 10 ml), choriových klků či tkáňové biopsie (uložené ve sterilním fyziologickém roztoku – ne formaldehyd!) odebraný do plastové nádoby označené štítkem s identifikačními údaji pacienta. V případě prenatalního vylučování aneuploidii metodou QFPCR je nezbytné dodat i primární biologický materiál matky – krev v EDTA, bukální stěr nebo izolovanou DNA – pro ověření fetálního původu DNA.

Primární vzorek spolu s náležitě vyplněnou žádankou a informovaným souhlasem pacienta s genetickým laboratorním vyšetřením neprodleně dodat standardní cestou do laboratoře dle požadavků (teplota a doba transportu) specifikovaných pro jednotlivá vyšetření v Katalogu laboratorních vyšetření FNOL.

Po přezkoumání údajů na žadance a vizuální kontrole jeho kvality – provádí se na příjmu BM GEN, je vzorek převzat a zaevidován pracovníkem laboratoře. Primární vzorky uvedených tkání se zpracují co nejrychleji po dodání do laboratoře, mohou se však uchovávat v chladničce při 2-8°C až 10 dní, než dojde k jejich zpracování.

5.2.3. Transport vzorků od žadatelů ambulantní části GEN

Odebrané vzorky přebírá pracovník laboratoře po odběru, popisu odběrové nádoby a provedení úkonů příjmu BM. Pokyny jsou stanoveny ve směrnici „Příjem biologického materiálu v laboratořích GEN“.

5.3. Identifikace pacienta na žadance a označení vzorku biologického materiálu

5.3.6. Žadanky o vyšetření biologického materiálu

Žadatel o vyšetření BM z FNOL (intramurální žadatel) může identifikaci pacienta na žadanku provést nalepením identifikačního štítku pacienta.

Povinné údaje na štítku zkumavky:

- jméno a příjmení pacienta,
- číslo pojištěnce (ID), datum narození nebo rok narození, event. náhradní rodné číslo,
- název oddělení požadujícího vyšetření (fakultativně),

Žadatel o vyšetření BM mimo FNOL (extramurální žadatel) musí identifikaci pacienta na žadance provést vypsáním do příslušných kolonek v žadance.

Vzory aktuálně platných žádank a informovaných souhlasů jsou dostupné v elektronické podobě pro žadatele z FNOL v aplikaci Altus Portal na intranetu FNOL ([https://altus.fnol.loc/Rychlé volby](https://altus.fnol.loc/Rychlé_volby) » **Žádanky na laboratorní vyšetření a Formuláře (zdravotnické)** » **Informované souhlasy**), externí žadatelé naleznou vzory na internetových stránkách Ústavu lékařské genetiky (<http://www.fnol.cz/> v záložce Kliniky, ústavy a oddělení » Ústav lékařské genetiky » **Pro odborníky**).

Povinné údaje na žádance:

- označení akutního vyšetření (STATIM),
- jméno a příjmení vyšetřované fyzické osoby (pacienta),
- číslo pojištěnce (ID) nebo datum narození vyšetřované osoby, které nebylo přiděleno číslo pojištěnce,
- u pacienta bez identifikačního čísla nutno označit, zda se jedná o muže (M) nebo o ženu (F),
- adresa místa pobytu pacienta v ČR,
- zdravotní pojišťovna vyšetřované fyzické osoby (pacienta),
- identifikační číslo zdravotnického pracoviště (IČP oddělení),
- klinická (hlavní) diagnóza (event. vedlejší diagnózy) pacienta,
- titul, jméno a příjmení lékaře požadujícího vyšetření: čitelně vypsát rukou nebo otisknout jmenovku a identifikační číslo lékaře (IČL) + vždy podpis lékaře,
- odbornost lékaře požadujícího vyšetření,
- razítko oddělení (nebo zdravotnického zařízení) žadatele,
- datum a čas (hodinu) odběru,
- druh biologického materiálu,
- požadovaný(-é) druh(-y) vyšetření
- **je nezbytné potvrdit (zaškrtnutím příslušného políčka) vyplnění Informovaného souhlasu s genetickým vyšetřením (Fm-L009-035-GEN-001). Bez tohoto odsouhlasení není možno genetické vyšetření provést! Za provedení a vyplnění „Informovaného souhlasu“ zodpovídá lékař indikující genetické vyšetření!**

Všechny tyto údaje jsou nezbytné pro vyúčtování laboratorních výkonů zdravotním pojišťovnám nebo samoplátcům a pro správné přiřazení BM k žádance.

Za potvrzení správnosti údajů na žádance odpovídá lékař indikující genetické vyšetření. Veškeré údaje na žádance musí být vyplněny čitelně. Pokud použijete k identifikaci pacienta identifikační štítek, musí být údaje na něm jasně čitelné.

5.4. Hlavní chyby při odběru biologického materiálu

5.4.6. Odběr krve

Chyby při přípravě pacienta

Pacient nevyšel před odběrem léky snižující mitotickou aktivitu (antibiotika).

Chyby vedoucí k hemolýze vzorku

Hemolýza vadí při standardní izolaci DNA.

Hemolýzu způsobí:

- použití vlhké odběrové soupravy;
- znečištění jehly nebo pokožky stopami ještě tekutého dezinfekčního roztoku;
- znečištění skla, injekční stříkačky nebo jehly stopami saponátů;
- použití příliš úzké jehly, kterou se pak krev násilně nasává;
- prudké vystřikování krve ze stříkačky do zkumavky;
- stékání krve po povrchu kůže a pak teprve do zkumavky;
- prudké třepání krve ve zkumavce (k tomu dochází i při nešetrném transportu krve ihned po odběru);

- prodloužení doby mezi odběrem a dodáním do laboratoře;
- použití nesprávné koncentrace protisrážlivého činidla.

Chyby vedoucí ke koagulaci vzorku

Koagulace způsobuje znehodnocení vzorku BM při veškerých vyšetřeních prováděných v LGEN.

Koagulaci způsobí:

- použití nevhodné odběrové zkumavky bez protisrážlivého činidla;
- protrahovaným odběrem;
- nesprávným promícháním s protisrážlivým činidlem v odběrové zkumavce.

Adjustace, skladování a transport BM:

- nevhodné zkumavky nebo kapiláry,
- nesprávné protisrážlivé činidlo nebo jeho nesprávný poměr k plné krvi,
- obsah odběrové nádoby s antikoagulantem nebyl správně promíchán,
- zkumavky s materiálem nebyly dostatečně označeny,
- zkumavky s materiálem byly potřísněny krví,
- krev byla vystavena teplu nebo mrazu,
- krev byla vystavena přímému slunečnímu světlu.

5.4.7. Odběr plodové vody

- odebráno malé množství plodové vody,
- odběr proveden před ukončením 15. týdnem gravidity, riziko malého množství buněk plodu v plodové vodě,
- kontaminace mateřskou krví (starší při předchozím intraamniálním krvácení nebo čerstvou při transplacentárním odběru),
- bakteriální kontaminace BM.

5.4.8. Odběr choriových klků

- odebráno malé množství choriové tkáně,
- bakteriální kontaminace BM,
- maternální kontaminace.

5.4.9. Odběr pupečnickové krve

- odebráno malé množství pupečnickové krve,
- bakteriální kontaminace BM,
- koagulace BM při nepoužití heparinizované odběrové nádoby,
- kontaminace mateřskou krví.

5.4.10. Odběr placentární tkáně a bioptického materiálu z potratů

- odběr nebyl proveden sterilně nebo do sterilní nádoby,
- kůže nebyla odebrána s podkožím.

5.4.11. Stěr bukalní sliznice

- kontaminace úst potravou, zvláště přítomnost mateřského mléka v ústech kojence může ovlivnit proveditelnost a kvalitu PCR. Vhodné vypláchnout před stěrem ústa např. dětským čajem,
- výrazná bakteriální kontaminace může ovlivnit kvalitu a trvanlivost vzorku,
- při stěru je třeba vyvinout přiměřený tlak, aby bylo odebráno dostatečné množství materiálu.

6. PŘÍJEM ŽÁDANEK A BIOLOGICKÉHO MATERIÁLU

6.1. Příjem biologického materiálu

Příjem vzorků probíhá na základě dodání řádně vyplněné žádanky a odběrové nádoby se vzorkem BM a začíná kontrolou úplnosti a shody údajů na žádance a odběrové nádobce. Příjem materiálu končí postoupením BM k dalšímu zpracování. Pracovník laboratoře potvrdí parafou převzetí.

Pracovník na příjmu BM provádí:

- porovnání požadovaného vyšetření na žádance s aktuální nabídkou laboratorních vyšetření,
- kontrolu zevní nepoškozenosti a čistoty povrchu nádob na biologický materiál,
- kontrolu vhodnosti odběrové nádoby vzhledem k požadovaným vyšetřením a podmínkám transportu,
- kontrolu identifikačních údajů na nádobce (zkumavce).

V případě, že je možno požadavky žadatele o vyšetření akceptovat, pracovník na příjmu vzorek převezme a zaznamená do knihy příjmu BM, který je současně i deníkem pro záznam neshod na příjmu BM.

Žádanka se po přezkoumání označí datem, hodinou příjmu BM a podpisem přezkoumavatele. Tato činnost je záznamem o vstupní kontrole. Vzorky se zpracovávají v časovém režimu dle časové dostupnosti uvedené v Katalogu laboratorních vyšetření.

6.2. Postupy při nesprávné identifikaci vzorku nebo žádanky

6.2.1. Vyšetření se provede

Pokud na žádance chybí některé z údajů, pracovník příjmu BM, který zjistí neshodu, si vyžádá doplňující údaje telefonicky a doplní je do žádanky a potvrdí podpisem.

a) Chybí-li razítko odesílacího subjektu, potom pracovník na příjmu GEN uplatní telefonický požadavek na novou žádanku.

b) Chybí-li:

- diagnóza pacienta,
- pojišťovna pacienta,
- jméno a identifikační číslo indikujícího lékaře (IČL) + podpis
- jméno a identifikační číslo odebírající lékaře/sestry + podpis
- datum odběru nebo čas odběru,
- některý z hlavních identifikačních údajů o pacientovi, tj. číslo pojištěnce nebo náhradní rodné číslo,
- označení požadovaného vyšetření,
- **v žádance potvrzení o sepsání informovaného souhlasu s pacientem,**
potom pracovník uplatní telefonický požadavek na doplnění a **neshodu zaznamená do Knihy příjmu BM** a údaje doplní do žádanky a potvrdí podpisem.

c) Pokud je nádobka s biologickým materiálem označena z uvedených povinných identifikačních znaků pouze jménem pacienta, laborať jí může přijmout za předpokladu, že je jednoznačně připojena k žádance s kompletní identifikací pacienta (přilepením nebo v uzavřeném obalu). Neshoda je zaznamenávána do Knihy příjmu BM.

d) V případě překročení lhůty pro doručení stanovené doby transportu u požadovaného vyšetření, pracovník na příjmu vzorek uvolní a neshodu zaznamená do Knihy příjmu BM. V takovém případě je vzorek uvolněn, ale tato skutečnost je pak uvedena ve výsledkovém listu.

e) Při nedostatečném objemu odebraného biologického materiálu:

Pracovník na příjmu BM zaznamenává tuto, jako neshodu do Knihy příjmu BM. O provedení vyšetření rozhoduje vedoucí příslušné laboratoře. I při nedostatečném množství materiálu může být vzorek uvolněn, ale tato skutečnost je uvedena ve výsledkovém listu.

6.2.2. Vyšetření se neprovede

Nepodaří-li se získat údaje o odesílajícím oddělení, žadateli, základní identifikaci pacienta, nebo je vzorek viditelně znehodnocen, vyšetření se neprovede.

- a) Vzorek biologického materiálu byl zaslán omylem na GEN.
Pracovník na příjmu jej vrátí potrubní poštou nebo svozové službě, popř. uloží na vyhrazené místo do stojánu označeného „Neshody při příjmu“ a poté jej předá svozové službě.
- b) Přejde nevyplněná žádanka s neoznačeným BM a pracovníkovi na příjmu se nepodaří získat údaje o odesílajícím oddělení nebo alespoň základní identifikaci pacienta.
Pracovník provede záznam do Knihy příjmu BM a uloží vzorek biologického materiálu do stojánu označeného názvem „Neshody při příjmu“ a následující den jej likviduje předepsaným způsobem.
- c) Přejde-li vyplněná žádanka bez BM.
Pracovník, který zjistí neshodu, provede záznam do stávající žádanky a do Knihy příjmu BM.
- d) Je zásadním způsobem porušen či znehodnocen odebíraný BM.
Pracovník, který zjistí neshodu, oznámí ji vedoucímu příslušné laboratoře, který upozorní pracovníka odesílajícího oddělení na nemožnost provést požadované vyšetření. Neshodu zaznamená na žádanku a do Knihy příjmu BM a žádanku exportuje žadateli. Pracovník zlikviduje biologický materiál předepsaným způsobem.
V některých případech lze vyšetření provést i při porušení BM (rozhoduje vedoucí laboratoře). V těchto případech je vzorek uvolněn, ale uvedená skutečnost je popsána ve výsledkovém listu.
- e) BM byl dodán v nesprávné odběrové nádobce vzhledem k požadovanému druhu vyšetření:
Pracovník příjmu BM, který zjistí neshodu, oznámí ji vedoucímu příslušné laboratoře, který rozhodne o přijetí či nepřijetí vzorku. Pracovník příjmu BM provede záznam o nesprávném odběru do stávající žádanky a neshodu zaznamená do Knihy příjmu BM a v případě, že je vzorek vedoucí laboratoře odmítnut telefonicky, vyžádá si nový odběr se žádankou. Vzorek biologického materiálu zlikviduje předepsaným způsobem.
- f) V případě potřísnění zkumavky a žádanky biologickým materiálem.
- Materiál se nemusí přijmout – rozhoduje vedoucí laboratoře, s nímž pracovník na příjmu případ konzultuje. V případě odmítnutí se provede záznam do Knihy příjmu BM a záznam do žádanky odpovídající zjištěné neshodě.

7. UCHOVÁVÁNÍ BIOLOGICKÉHO MATERIÁLU

7.1.6. Uchování biologického materiálu pro účely kultivace

- Maximálně 2-3 dny v lednici.
- Skladovatelnost biologického materiálu po zpracování a fixaci (buněčný sediment): maximálně do doby vydání výsledku v mrazáku.
- Cytogenetické nátěry: minimálně 3 roky

7.1.7. Uchování biologického materiálu pro účely analýzy DNA

- Primární BM skladován viz tabulka níže pouze do doby vydání výsledku. Déle pouze ve formě vzorku izolované DNA v mrazáku – DNA banka.

Vyšetření	Maximální časový interval	Teplota
Produkty PCR	3 měsíce	-20 °C ± 4 °C
Plodové vody	1 měsíc	2 – 8 °C
Krve	2 týdny	2 – 8 °C
Plodové vody a choriové klky	1 rok	-20 °C ± 4 °C
DNA banka	Neomezená doba*	-17 – -35 °C
Choriové klky	1 měsíc	2 – 8 °C

*V případě požadavku pacienta na likvidaci DNA, je DNA likvidována předepsaným způsobem dle pokynů žadatele po skončení vyšetření.

7.1.8. Uchování vzorků, u kterých se vyšetření neprovede

Pracovník, který zjistí neshodu, uloží BM do stojánu označeného „Neshody při příjmu“. V případě, že se nepodaří neshodu vyřešit, vloží BM do odpadové nádoby pro likvidaci BM a likviduje v souladu s celonemocniční směrnici o zacházení s odpady.

8. VÝSLEDKY

8.1. Sdělování výsledků žadatelům o vyšetření

Vydávání výsledků se provádí:

- v tištěné podobě na výsledkové zprávě (prenatální cytogenetická laboratoř): „Cytogenetická zpráva“,
- v tištěné podobě na výsledkové zprávě (postnatální cytogenetická laboratoř): „Cytogenetická zpráva“,
- v tištěné podobě na výsledkové zprávě (laboratoř DNA): „Zpráva o analýze DNA“.

Výsledky se předávají:

- lékařům GEN:
 - jsou – li sami žadateli o vyšetření,
 - v případě patologických výsledků - výsledek vyšetření sděluje případným extramurálním žadatelům o vyšetření klinický lékař GEN,
 - jako výstup o zaslání určitého výsledku vyšetření z poradny GEN - výsledek vyšetření sděluje případným extramurálním žadatelům o vyšetření klinický lékař GEN,
- extramurálním žadatelům o vyšetření, nestanoví – li lékař GEN jinak.

Telefonicky se sdělují:

- výsledky tzv. „rychlé metody“ - pacientkám se v prenatálních laboratořích nesdělují pracovníky LGEN (lékař GEN sdělující výsledek si ověřuje kontrolními dotazy jméno, příjmení, rodné číslo).

Výjimkou je postup v případě soudně znalecké činnosti.

8.2. Hlášení výsledků v kritických intervalech

Extrémní hodnoty vyšetření (patologické výsledky) jsou sdělovány ústně pouze lékaři GEN, který rozhoduje o dalším postupu. Přehled hlášených kritických hodnot je uveden v Příloze č. 2 Kritické hodnoty výsledků.

8.3. Vydávání výsledků přímo pacientům a dalším osobám

Platí pravidlo „ORIGINÁLNÍ VÝSLEDEK PATŘÍ ŽADATELI“.

V jiných případech výsledek nesmí být vydán nebo sdělen pacientovi nebo třetí osobě, a to ani na základě jeho ústní (osobní nebo telefonické) nebo písemné žádosti.

Žadatelem může být:

- lékař požadující vyšetření,
- samoplátce nebo jeho zákonný zástupce po předložení průkazu totožnosti s uvedením vztahu k osobě nebo rodného listu. V případě, že samoplátce je nemohoucí, je výsledek předán osobě na základě předložení plné moci (podpis).

8.4. Změny výsledků a nálezů

Přes veškerá opatření systému řízení kvality nelze zcela vyloučit vznik nahodilých chyb a omylů. Dochází k nim při zásahu vnějších rušivých faktorů, při poruchách techniky, malfunkci činidel a spotřebních materiálů nebo v důsledku lidského selhání.

8.4.1. Chyba v ambulanci nebo na oddělení žadatele

Při zjištění chyby na lůžkovém oddělení nebo v ambulanci lékaře (nejčastěji záměna nebo znehodnocení odebraného biologického materiálu) musí být laboratoř GEN o této chybě ihned informována.

Na GEN se dále postupuje takto: při záměně nebo znehodnocení biologického materiálu se oddělení požádá o odběr nového biologického materiálu s doplněním doby odběru a výsledky původního odběru se nahradí výsledky novými. Tyto změny jsou uvedeny na papírové žádance. Záměna vzorků podléhá „Hlášení nežádoucí události“ - <https://hlasenin.u.f3.cuni.cz/report/HNU/>, vyplněním Fm-L009-026-ZAMENA-001 Záměna biologického materiálu.

8.4.2. Chyba v rámci laboratoří GEN

Při zjištění chyby v rámci laboratoří GEN („neshodného vyšetření“) se postupuje takto:

- je informován vedoucí příslušné laboratoře, který zváží význam neshodných vyšetření a informuje žadatele,
- v případě potřeby je další vyšetřování zastaveno a zprávy o výsledcích jsou zadrženy,
- již uvolněné výsledky neshodných vyšetření jsou podle potřeby staženy a vhodným způsobem označeny,
- po nalezení a odstranění příčiny chyby se neshodná vyšetření opakují.

Každý výskyt neshody je dokumentován a zaznamenán a tyto záznamy jsou vyhodnocovány na provozních poradách GEN, aby mohly být nalezeny trendy a zahájeny preventivní činnosti.

8.4.3. Sdělení nesprávného výsledku

V případě zjištění vydaného chybného výsledku:

- pracovník, který zjistí chybu, oznámí tuto skutečnost vedoucímu laboratoře,
- vedoucí laboratoře oznámí neshodu a správný výsledek vyšetření žadateli, v případě jeho nedostupnosti všeobecné sestře na pracovišti. Požádá, ať daný výsledek zneplatní podpisem NEPLATNÝ. Vedoucí laboratoře provede záznam do příslušných evidenčních knih: kdy, komu a jakou informací předal. Záznam parafuje.
- žadateli je nový výsledkový list zaslán s novým datem a hodinou tisku a s informací o změně výsledku.
- vedoucí laboratoře provede potřebné opravy v Medea, Lucia a uloží je s aktuálním datem.

9. KONZULTAČNÍ ČINNOST LABORATOŘÍ GEN

Vedoucí příslušné laboratoře poskytuje informace o volbě vyšetření, poskytování služeb laboratoří a laboratorní interpretaci výsledků vyšetření.

9.1. Způsob řešení stížností

9.1.1. Reklamáce výsledku

Za reklamaci výsledku je považován nesouhlas ze strany zadavatele alespoň s jedním naměřeným výsledkem vyjádřený písemnou nebo ústní formou. Za reklamaci výsledku není považována konzultace laboratorní interpretace výsledků mezi žadatelem a pracovníkem LGEN.

O tom, je-li reklamáce oprávněná, rozhoduje vedoucí laboratoře po zkontrolování všech podkladů.

Pokud nedojde mezi zadavatelem a pracovníkem, který výsledek vydal, ke shodě, řeší se problém osobním jednáním.

Reklamáce jsou zaznamenány do Knihy stížností, jejich evidencí (zápisem) je pověřen pracovník, který reklamaci přijímal. Za zápis o nápravě i za samotnou nápravu reklamací je odpovědný pracovník, který reklamaci přijímal.

9.1.2. Stížnosti

Za stížnost je považováno vyjádření nesouhlasu zadavatele s jednáním kteréhokoliv pracovníka laboratoře vyjádřené stěžovatelem vedoucímu laboratoře, zástupci přednosta, přednostovi GEN, nebo vedení FNOL ústně nebo písemně. Stížnosti řeší zástupce přednosta nebo přednosta GEN v součinnosti s vedoucí laboratoře. Rozhoduje, jestli je stížnost oprávněná a v kladném případě zodpovídá za její řešení. Stížnosti zaznamenává do Knihy stížností.

9.1.3. Zásady ochrany osobních informací

Pravidla pro zachování důvěrnosti informací a ochranu elektronicky ukládaných dat jsou zavedena ve dvou úrovních:

- první úroveň je položena do roviny morálních vlastností pracovníka, který je ve své pracovní náplni zavázán k zachování mlčenlivosti. Povinnost dodržovat mlčenlivost a nepoškozovat jméno a zájmy svého zaměstnavatele pro každého pracovníka navíc vyplývá ze Zákoníku práce;
- druhá úroveň je tvořena systémovými a technickými opatřeními pro zabezpečení důvěrnosti informací



10. PŘÍLOHY

Příloha č. 1 Pokyny pro pacienty a pro oddělení

Příloha č. 2 Kritické hodnoty výsledků

11. REVIZE

Revize a změny dokumentu se provádí do Fm-G001-REV-001 Záznam o revizi ON a Fm-G001-ZMENA-001 Změnový protokol vedených u správce dokumentace.